



TITLE:

計画2-1 光学活性化学物質の立体選択的代謝反応における分子機構(VI 共同利用研究 2.研究成果)

AUTHOR(S):

成松, 鎮雄; 比知屋, 寛之; 竹味, 千恵; 山本, 重雄; 佐藤, 哲男

CITATION:

成松, 鎮雄 ...[et al]. 計画2-1 光学活性化学物質の立体選択的代謝反応における分子機構(VI 共同利用研究 2.研究成果). 霊長類研究所年報 2002, 32: 89-89

ISSUE DATE:

2002-08-27

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/165797>

RIGHT:

高い塩基多様度 (0.066%) を示した。(3) テナガザルのいくつかの種で、同一種に属する個体が単系統群とならなかった。

この結果は論文として発表し (文献), またこれらの研究成果を日本進化学会第 3 回大会, および日本分子生物学会第 24 回大会において発表した。

文献: Noda, R., Kim, C.-G., Takenaka, O., Ferrell, R. E., Tanoue, T., Hayasaka, I., Ueda, S., Ishida, T. & Saitou, N. (2002) Mitochondrial 16S rRNA sequence diversity of hominoids. *Journal of Heredity* 92: 490-496.

計画 1-5 p53 遺伝子解析による霊長類の種属と進化、分岐に関する研究

安積順一・玉木敬二・松本博志
(札幌医大・医・法医学)

ヒトと非ヒト霊長類の識別および進化、分岐を探る目的で、ヒト p53 遺伝子の第 3 イントロンと第 4 イントロンにプライマーを設定し、ヒトと非ヒト霊長類 (13 種類) の第 4 エクソンの塩基配列の解析を行った。

ヒトとチンパンジー、ピグミーチンパンジーおよびゴリラの第 4 エクソンの塩基配列を比較したところ、チンパンジーとピグミーチンパンジーの 12 番目の塩基 (コドン 36) が G→A に置換していたのを除き塩基配列は同じであった。この部位はヒトにおいて塩基多型がみつかり、ヒト同様の塩基多型が類人猿にもあることを示唆している。非ヒト霊長類 (上記の 3 種類を除く) ではヒトに対する共通の塩基置換が、第 4 エクソンの 56 番目 (A→C), 103 番目 (C→T), 199 番目 (T→C) の 3 カ所にあった。

p53 遺伝子第 4 エクソンの塩基配列から平均距離法 (UPGMA) で分子系統樹を作成して、霊長類 14 種類の系統関係を解析したところ、類人猿のフクロテナガザル、シロテナガザルと旧世界ザルのリーフモンキーは同じ分類となり、また新世界ザルのリスザルとは比較的近い関係になったことは非常に興味深いことである。

今後、p53 遺伝子の第 4 エクソン以外の部分についても塩基配列の解析を行い、霊長類の系統関係をより明らかにしたい。

計画 2-1 光学活性化学物質の立体選択的代謝反応における分子機構

成松鎮雄・比知屋寛之・竹味千恵
・山本重雄 (岡山大学・薬)
・佐藤哲男 (霊長類機能研)

ヒトとサルは薬物代謝機能に関する比較生化学的研究の一環として光学活性な β 遮断薬 Bufuralol (BF) の立

体選択的代謝反応をヒトとニホンザルの間で比較した。BF の側鎖には不斉炭素が一つあることから R-BF と S-BF のエナンチオマーが存在し、 β 受容体遮断活性は R-BF < S-BF である。ヒト肝ミクロソーム (Ms) においては、いずれの BF エナンチオマーも芳香環 7 位に付いたエチル基の 1" 位水酸化が主要な代謝経路であり、新たな不斉炭素を生じる (Fig 参照)。なお 1" -OH-BF は β 受容体遮断活性が母化合物を上回る活性代謝物である。ヒト肝で 1" 位水酸化反応を主に触媒する CYP2D6 は遺伝子多型性を示すことで知られている。

ヒト肝 Ms による R-BF からの 1" 位水酸化体生成活性は 1" R-OH < 1" S-OH, 一方 S-BF からは 1" R-OH > 1" S-OH であり、酵母発現 CYP2D6 の選択性と一致した。ニホンザル肝 Ms による BF エナンチオマー酸化反応では、ヒトと同様に 1" 位水酸化体が主要な代謝物として生成し、代謝物ジアステレオマー生成活性はヒトと同様 R-BF からの 1" 位水酸化体生成活性は 1" R-OH < 1" S-OH, S-BF からは 1" R-OH > 1" S-OH であった。そこで、ニホンザル肝に存在する CYP 分子種の性質を検討するために、マーモセット CYP2D19 cDNA の塩基配列に基づいて調製したプライマーを用いた RT-PCR により、ニホンザル肝抽出 total RNA から cDNA を作製し、大腸菌ベクターである pBS にクローニングして塩基配列を決定した。次いでシャトルベクター pGYR1 にサブクローニングした後に酵母細胞にトランスフェクションし、還元酵素と共発現させた。このようにしてニホンザル肝より得られた CYP 分子種は推定アミノ酸配列においてヒト CYP2D6、カニクイザル CYP-2D17 及びマーモセット CYP2D19 と各々 99, 96 及び 88% の相同性を示し、CYP2D29 と命名された。BF 1" 位水酸化反応において CYP2D29 発現酵母 Ms はニホンザル肝 Ms と同じ立体選択性を示すと共に、ニホンザル肝 Ms による BF 1" 位水酸化反応は、ヒト CYP2D6 の特異的阻害剤 quinidine あるいはラット CYP2D2 抗体添加により、濃度依存的に阻害された。以上の結果より、ニホンザル肝にはヒト CYP2D6 と良く類似する CYP2D29 が存在し、光学活性医薬品の立体選択的酸化反応に寄与することが明らかになった。

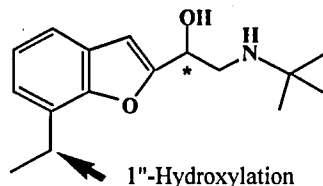


Fig. Bufuralol 1"-Hydroxylation. *Asymmetric carbon.